

O cadaver, transportado para o Instituto de Anatomia Pathologica da Faculdade de Medicina, foi autopsiado, constatando-se a existencia de lesões características em varios orgams, produzidas por blastomycetos, conforme se verificará pelo relatório da necropsia, que em outra occasião será publicado.

(Vide addenda á pagina 346 do presente numero).

Como se deve, racionalmente, preparar o caldo de cultura

Pelo Dr. Geraldo de Paula Souza, preparador de Chimica Medica da Faculdade de Medicina e Cirurgia de S. Paulo.

No primeiro numero desta Revista, iniciei um resumo do trabalho do illustre prof. Dr. R. Hottinger, sobre "caldo de cultura e seu preparo racional", publicado em allemão, no "Central blatt fur Bakteriologie".

Por diversos motivos, só agora terminal-o-hei.

O que segue é principalmente a parte propriamente bacteriologica, é uma receita pratica do preparo do caldo.

— O caldo pancreatico concentrado, conserva-se longo tempo (annos) no laboratorio e, sobretudo bem, quando addicionado de chloroformio. Essa substancia, impedindo o desenvolvimento de microorganismos, deve portanto ser eliminada, por occasião da utilização do meio de cultura. Para que a sua eliminação se faça completa, mostram as experiencias, deverem ser preenchidas certas condições. Sabe-se que o chloroformio ferve a 60.º, portanto pela fervura do caldo, este corpo volatilizar-se-ha. Porém, essa fervura deverá ser feita em vaso *aberto* (copo de bohemia, panella etc.) durante 10 minutos, não bastando o aquecimento, nem mesmo a 110º em autoclave. O quadro que se segue, mostra perfeitamente o que ficou dito e ainda mais, que a reacção que mais convem á pesquisa do chloroformio é da *isonitrila*, superior á da resorcina e muito melhor que a do naphtol, que por ser pouco sensivel demais, não foi contemplada.

Na tabella abaixo. +++ significa reacção muito forte, (+) ---, apenas apreciavel; e —, negativa. As reacções foram feitas no caldo, distillado com alcool.

Pesquisa do chloroformio após diferentes fórmias de aquecimento

	R. isonitrila	R. resorcina
Caldo pancreatico, com CHCl_3		
Em balão, no banho maria 82º	+	+
» copo, » » » »	+	+
» balão, fervendo	+	
» copo, »	+	-
» balão na autoclave a 110º	+	+
Caldo pancreatico, fervido 5 minutos		
Distillados 300 cc	+	+
» 200 »	+	+
» 100 »	+	-
Outra amostra, fervida 10 minutos		
Distillados 100 cc	-	-
» 200 »	-	-
Sensibilidade das reacções		
Caldo pancreatico com 0,005 % CHCl_3	+	+
» » » 0,003 » »	+	+
» » » 0,0025 » »	+	-
» » » 0,002 » »	+	-
» » » 0,0015 » »	+	-

A reacção da isobenzonitrila, aprecia-se pelo olfacto, sendo de notar que em tubo de ensaio, a sua sensibilidade vai até 1:5000 de chloroformio; porém aquecendo-se a substancia em um grande vaso (panela p. ex.) e introduzindo-se a face nelle, pode-se apreciar ainda a presença desse corpo em diluição de 1:60000.

Pela fervura durante 5 minutos baixa o teor em chloroformio de 0,7 0/0 a 0,002 0/0 e pela fervura durante 10 minutos, não se encontra mais essa substancia em distillado de 200 cc.

QUALIDADE DO CALDO PANCREATICO

A qualidade desse caldo, nada tem a desejar do communmente preparado, addicionado de peptonã Witte, embora seja grande a sua diluição.

Não se deve esquecer, que a lei do minimo de alimento, tem seu emprego tambem na bacteriologia, da mesma fórmula

que são applicaveis aos seres inferiores os phenomeons physiologicos da nutrição. O bom desenvolvimento de microorganismos, depende muito mais da qualidade, que da quantidade de materias nutritivas. Um excessivo conteudo de substancias directamente assimilaveis, age desfavoravelmente sobre as funcções cellulares microbianas, da mesma fórma que nos organismos pluricellulares, onde a vida é uma expressão de multiphas funcções cellulares.

Em seguida, veremos como pode ser levada longe a diluição do caldo pancreatico, sem prejuizo do desenvolvimento microbiano. Nas experiencias, em comparação com caldo commum, procedeu-se como se segue. A carne primitiva, forneceu pelo processo habitual, caldo commum. Com o residuo, foi feito por processo digestivo, caldo pancreatico. Feitas as diluições deste ultimo, semearam-se os caldos com igual quantidade de germens, provenientes da mesma cultura (em caldo) introduzindo, para tal fim, sempre da mesma forma, a alça de platina. A apreciação da quantidade de microorganismos desenvolvidos, foi feita, seja pela turvação, seja pela fluorescencia, ou ainda pela sementeira em placas de gelose, da mesma quantidade de caldo. Todas as amostras foram igualmente alcalinizadas, até fraca reacção com o papel de azolithmina.

Ao caldo commum nada foi addicionado, a não ser sal de cosinha.

BAC. COLI

Após turvação do caldo, foram feitas placas de gelose, cuja riqueza em colonias se encontraram na seguinte ordem:

A mais rica, de caldo pancratico	12 l. (1 kg. carne, 12 litros agua)
» » » » » »	20 »
Em seguida	» » 6 »
» » » » » »	30 »
» » » » » »	4 »
» » » » » »	2 »
» » » » » »	commum

Após 30 horas, o indol foi dosado colorimetricamente dando com:

caldo commum	1	kg. carne	2 ^l	agua	Em 10 ^a	cultura	6,3	mgs indol
» panceatico	1	»	4	»	»	»	17,5	»
»	1	»	6	»	»	»	17,5	»
»	1	»	8	»	»	»	16,5	»
»	1	»	12	»	»	»	12,5	»
»	1	»	15	»	»	»	8,8	»
»	1	»	20	»	»	»	7,8	»
»	1	»	30	»	»	»	6,3	»
»	1	»	60	»	»	»	2,8	»

Em relação a formação do indol, o caldo “pancreatico” na diluição de 1:30 é comparavel ao “commum” sendo pelo menos tão bom quanto ao desenvolvimento de colonias.

BAC. PYOCYANEUS

Após 24 horas de estufa, as culturas foram examinadas quanto a fluorescencia e a turvação. A intensidade dessas duas propriedades está representada por cruces e é proporcional ao numero dellas.

	Diluição	Turvação	Fluorescencia
1 Calde commum	1 : 2	+	+
2 „ pancreatico	1 : 4	+	+
3 „ „	1 : 6	+	+
4 „ „	1 : 8	+	+
5 „ „	1 : 12	+	+
6 „ „	1 : 15	+	+
7 „ „	1 : 20	+	+
8 „ „	1 : 30	+	+
9 „ „	1 : 60	+	+

BAC. PRODIGIOSUS

Comporta-se como o precedente. A materia corante aparece no n.º 9 (1:60) e a medida que augmenta a concentração, perde a sua formação, notando-se que no caldo commum ao “tons” são menos limpos.

E' importante lembrar, que com a diluição do caldo pancreatico, pode ser ultrapassado o minimo de certas substancias nutritivas soluveis, que devem ser addicionadas. Porém quando se quizer preparar um meio nutritivo chimicamente definido, basta extrahir com agua a carne, até que ella se torne livre de saes, o que se consegue com cinco extracções. A digestão se fará então, até se obter o maximo de reacção do "tryptophano", que nos dá a concentração em materia azotada; addiciona-se então esta ou aquella substancia necessaria. Como fonte de phosphoro, pode-se fazer digerir "caseina segundo Hammarsten" que fornece 0,85 0|0 de phosphoro. Apesar de se extrahirem certas substancias, como acido phosphorico e saes, ainda apparecem culturas. Assim cresceram em 10 cc de caldo, onde só haviam 0,000025 gr. de acido phosphorico, mostrando que não é a quantidade dos componentes o mais importante no caso, porém as suas relações na mistura, tanto para o crescimento, como para as funcções vitales de formação de materias coradas, fluorescencia etc..

No preparo dos caldos não se tem em vista somente o bom crescimento de germens, mas tambem a formação de certos corpos, toxinas, indol, escatol, materias coradas etc., devendo-se para isso estudar as condições em que melhor apparecem esses phenomenos.

As experiencias seguintes foram feitas com caldo de carne fervida e 2 dias digerida a 38.°, cuja reacção de typtophano era forte, porem não maxima.

BAC. ANTHRACIS

Após 16 horas de estufa, foram feitas placas.

	Diluições	Numero de colontas por placa
Caldo commum.	1:2 .	950
» pancreatico	1:3	1260
» »	1:5	850
» »	1:8	1840
» »	1:20	1080
» »	1:30	1010
» »	1:40	1800
» »	1:80	2300

Como o germen com o qual se fez esta serie de experiencia, se achasse em caldo pancreatico, poder-se-ia objectar, haver elle já se adaptado ás condições do meio, não se podendo portanto concluir do seu maior desenvolvimento nesse mesmo caldo, como funcção de melhoria de condições. Por isso foi elle semeado em caldo commum e desse caldo retirado, para nova serie, que deu o seguinte resultado, confirmando a primeira:

				Diluições	N.º de colonias nas placas
1	Caldo commum	.	.	1:2 litros	33
2	„ pancreatico.	.	.	1:3 »	7
3	„ „	.	.	1:5 »	186
4	„ „	.	.	1:8 »	1040
5	„ „	.	.	1:14 »	1070
6	„ „	.	.	1:20 »	980
7	„ „	.	.	1:30 »	560
8	„ „	.	.	1:40 »	740
9	„ „	.	.	1:70 :	1040
10	„ „	.	.	1:80 »	850

O n.º 1 foi semeado com (3) alças de platina, os seguintes com uma (1) apenas.

BAC. COLI

Oito horas de estufa, até apparecimento de turvação. Feitas placas de gelose com diluição até de 1.80. As placas de caldo commum e de pancreatico 1:70 foram comparaveis, quanto ao numero de colonias, apreciado por turvação, atravez da placa vidro illuminada com luz diffusa.

A producção de indol deu o resultado seguinte:

A mais forte	com caldo panc.	1:5	
»	»	»	1:8
»	»	»	1:14
»	»	»	1:3
»	»	»	1:20
»	»	»	1:30 (igual a produzida com caldo commum)
»	»	»	1:40
A mais fraca	.	.	1:80

A mais forte, 1:5 teve uma concentração quatro vezes maior que a de 1:30 igual ao caldo commum.

Experiencia com bac typhosus, paratyph. A, deram resultados comparaveis, isto é, quanto ao desenvolvimento em diluição de 1:30 — 1:40 tão bem quanto o caldo comum a 1 0|0 de peptona.

CORINEBACT. DIPHTHERIÆ

Semeadura em placas 16 horas após a do caldo.

	Diluição	Turvação	Placas	Colonias
n.º 1 caldo commum	1:2	apenas visível	menos que n.º 5	860
» 2 » pancreatico	1:14	cultura apreciavel }	mais colonias que n.º 1	6700
» 3 » »	1:20			
» 4 » »	1:30			
» 5 » »	1:50	apenas visível	approx, 10 vezes menos que n.º 1	
» 6 » »	1:80			

BAC. PRODIGIOSUS

Desenvolvimento igual em todos os tubos das diluições n.º 2 — 1:15; — n.º 3 — 1:20; — n.º 4 — 1:30; — n.º 5 — 1:40 e n.º 1 — 1:2 de caldo commum.

BAC. PYOCYANEUS

Materia corada observada no arco voltaico, existente após 12 horas nos n.ºs 2 a 5, negativa no n.º 1. O n.º 5 (1:40) mais corado. Ordem de producção 5) 4) 3) 2 — (1 não deu visível. Coloração violeta e verde após 24 horas, ao passo que com o caldo commum, o verde apparece muito mais tarde.

BAC. COLI

Em relação á turvação todos os tubos deram a mesma, nesta experiencia. A formação de indol após 20 horas (2.ª cultura 1.ª react. Erlich, 1 cc K2 S2 08 após 1|2 hora, com 3cc chlorof.) N.º 1 ficou entre os n.ºs 4 e 5, equivalendo a uma diluição de 1:35.

BAC. PARATYPHIA

A turvação appareceu nos tubos ao mesmo tempo e igualmente. Nas placas o n.º 5 deu 1/3 a mais, de colonias que o n.º 1.

BAC. TYPHI

Como no paratypho a turvação e desenvolvimento foi forte, porém após alguns dias as grandes diluições deram uma precipitação diminuindo o seu desenvolvimento, em relação ao caldo peptonado commum.

Apparecem ainda confirmações dos resultados com bac. anthracis.

Pode-se dizer que conforme o fim que se tem em vista, esta ou aquella diluição é a mais conveniente. Assim para produção de materias coradas, pode-se levar a diluição até 1:150, principalmente para a diagnose, esta diluição é favoravel.

Para os fins communs do laboratorio a diluição de 1:30 é a que mais convem.

Querendo-se porém grande quantidade de bacterias não se deve levar a diluição a mais de 1:10, pois com mais diluição o desenvolvimento pararia cedo de mais, o que não tem importancia no caso de simples diagnose, onde apenas se quer um desenvolvimento rapido.

Concentrações fortes, isto é, infusões a 1:6, não se devem usar, sinão quando casos muito especiaes se apresentarem.

As substancias mineraes, ao contrario das organicas, que são fontes de azote, pela digestão, não são augmentadas, pois não soffrem o desdobramento destas, que virão desta forma a serem utilizadas, quando antes não o eram. Com as diluições facilmente se attinge o minimo dessas substancias. Nas experiencias precedentes só se addicionou sal de cosinha.

O Prof. Hottinger ainda aconselha o seguinte tratamento do caldo, para supprir a falta de substancias mineraes: fazer uma solução concentrada de sal de cosinha impuro (que contem saes de magnesio). Filtrar essa solução e addicionar



CASA FRETIN

Especialista em
INSTRUMENTOS DE CIRURGIA

Productos e aparelhos de Laboratorio

Bacteriologia

Physiologia

Histologia

Anatomia

Autopsia

Electrotherapia

Esterelisação

Microscopia

Orthopedia

MOBILIARIO CIRURGICO

Grande Officina electrica propria
para fabrico, concertos e affiação

NICKELAGEM E PRATEAÇÃO

LOUIS FRETIN

Telephone, 1774 — RUA S. BENTO, 20 — Caixa, 1273

Casa de Compras em Paris: 112, Fg. POISSONNIERE S. PAULO

Secção de Obras de

“O Estado de S. Paulo”

Jornaes, Revistas, Folhetos, Trabalhos com-
merciaes com esmero e a PREÇOS MODICOS

SECÇÃO ARCHIVO
TELEPHONE N. 725

Rua 25 de Março, 145 - S. PAULO

XX

Edições da Livraria FRANCISCO ALVES

Noções de hygiene, pelos Drs. Afranio Peixoto e Graça Couto, 1 vol. enc.	7\$000
Elementos de hygiene, pelo Dr. Afranio Peixoto, 1 vol. enc.	12\$000
Elementos de medicina legal, pelo Dr. Afranio Peixoto, 1 vol. enc.	12\$000
Notas e formulas therapeuticas, pelo Dr. João Monteiro, 1 vol. enc.	4\$000
Licções de microbiologia geral, pelo Dr. Raul Leitão da Cunha, 1 vol. enc.	12\$000
Noções de pharmacia gallenica, pelo Dr. Pedro A. Pinto, 1 vol. enc.	5\$000
Como nos devemos alimentar, por Selda Potocka, 1 vol. br.	1\$500
Regras e receitas de uma cosinha hygienica, por Selda Potocka, 1 vol. br.	1\$500

RUA LIBERO BADARÓ, 129

FRANCISCO ALVES & C.^{IA}

SÃO PAULO

EFFEITOS DA GUERRA

A Guerra Européa tem trazido á luz, de um modo positivo, o valor do oleo de fígado de bacalhão como um elemento nutritivo productor de forças e resistencia. Quando na Allemanha escasseavam os alimentos e os medicamentos, esta potencia enviou á Noruega agentes para arrebanhar a producção daquelle oleo. Convencida a Inglaterra do valor deste elemento de substancia, que a sua inimiga tão cautelosamente aproveitava, mandou seus agentes á Noruega e contractou, a preços fabulosos, todo o abastecimento. Isto é um verdadeiro tributo ao grande valor daquelle precioso oleo e motivo porque se teve que pagar preços fantasticos pelo mesmo para continuar-se a preparar a EMULSÃO DE SCOTT, de modo que não faltasse este medicamento, tão indispensavel nos paizes onde dependem do mesmo milhares de organismos enfraquecidos.

Devido á grande carestia do oleo puro, agora mais do que nunca, deve-se o maior cuidado para não se acceitar, por preço algum, emulsões de ingredientes desconhecidos. Só se tem ABSOLUTA CERTEZA quando se compra a EMULSÃO DE SCOTT, e, portanto, a peor economia é acceitar qualquer outra coisa.

AVISO

Queremos avisar aos vendedores e consumidores do nosso producto "EMULSÃO DE SCOTT", e ao publico em geral, que devido aos novos grandes augmentos no preço do PURO Oleo de Fígado de Bacalhau, Hypophosphitos, Glycerina e demais ingredientes que entram na fabricação da legitima "EMULSÃO de SCOTT", vemo-nos na contingencia de elevar sensivelmente o preço aos droguistas.

Desejamos que o publico fique sciente de que continuaremos a empregar o melhor OLEO DA NORUEGA, assim como de outras materias de primeira classe, garantindo ao consumidor a mesma qualidade que instituimos ha mais de quarenta annos, pois queremos manter a mesma, inalteravel a todo o custo..

São Paulo, 11 de Maio de 1917.

SCOTT & BOWNE

para 100 cc, 5 grs. de diphosphato de potassio ($K_2 H PO_4$), que se dissolve lentamente. Por não conter a agua de S. Paulo saes de calcio, sinão em traços, aconselha ainda juntar uma ponta de faca de phosphato tricalcico, filtrar em seguida. Esta solução contem approximadamente, no litro 7 grs. de sal de cosinha e 1 grs. de phosphato de potassio.

— Na esterilisação do caldo não se deve elevar a mais de 105° ou $1\frac{1}{4}$ de At. Deve-se tomar a cautela de proteger os frascos na autoclave, contra a queda de agua de condensação da tampa da mesma, que geralmente sendo de ligas de cobre, dão traços deste corpo. sufficiente, ás vezes, para impedirem o desenvolvimento posterior das culturas.

RECEITA PARA O PREPARO DO CALDO PANCREATICO

AO ALCANCE DE SERVENTES DE LABORATORIO

Emquanto ferve $1\frac{1}{2}$ l. de agua, cortar carne em pedaços da grossura de um dedo, pesar 1 kg. da mesma e collocar na agua fervente. Uma vez que ferva de novo a agua, (que pela addição de carne se resfriou) retirar com um garfo os pedaços de carne e passal-os na machina de picar carne.

A agua após algum resfriamento é collocada em vidro de 2 litros e addicionada de uma ponta de faca ($1\frac{1}{2}$ grs) de carbonato de sodio, uma colher de chá de pancreatina (cerca de 3 grs.) ; 15 a 20 cc de chloroformio. Fechar o vidro com rolha e agital-o. A carne picada e fervida é introduzida no vidro e este de novo agitado. Collocar o vidro em lugar quente. A digestão na temperatura commum do laboratorio se faz em 5 dias ou mais e a 37° em 2 dias. Não se deve aquecer acima de 40° .

A digestão será interrompida, pela addição de acido chlorhydico, até leve acidez. A mistura será lançada em um filtro. Uma vez filtrado o liquido, lança-se o residuo em cerca de 2 litros de agua e de novo filtra-se após mexer bastante a mistura.

Os filtrados juntos, são fervidos em uma panella por alguns minutos e segundo as necessidades, serão feitas as di-

luições de 1:10, 1:30, 1:50 etc; ou si se quer conservar, mede-se a mistura após havel-a acidificado, nota-se a quantidade para futuras diluições.

O ácido e o chloroformio impedem a pullulação de germens até certo ponto. Assim guardando o caldo concentrado, no momento de querer usal-o, basta diluir por ex: 100cc em 1 litro de agua, filtrar e ferver. Após leve alcalinisação está o caldo prompto.

— E' conveniente lembrar: 1.º que quando se procede a digestão a 37.º, ficando a superficie da mistura pobre em chloroformio, pode haver putrefacção e como indicativo desse facto, notar-se-ha a subida dos pedaços de carne, para a superficie. Neste caso é conveniente addicionar mais chloroformio e agitar de novo, assim como, continuar a digestão em temperatura mais baixa; 2.º notar a apparencia dos pedaços de carne no começo de digestão e no decorrer da mesma, afim de ver si ella se modifica, pois se tal se não der é signal do poder digestivo do fermento, nesse caso deve-se juntar mais pancreatina.

A bibliographia do trabalho resumido é a seguinte:

- Abel Bakteriöl. Taschenb.
Courmont. Précis de bacter.
Deycke e Voigtlander — Studiën üb. Kult. Nahr bóden (C. F. B. I. B. 29)
Duclaux. Traité de Microb. 1 105.
Tischer — Vorlesungen üb. Bakt.
Fridberger, in Kolle — Wassermann 442.
Fuhrmann, in Abderhalden Hand. Arb. Bd3 — 1216.
Hottinger e G. de Paula Souza Rev. Soc. Scient. S. Paulo v. 4.
Hueppe, Die Methoden etc. 243.
Koenig — "Menschlich. Nahrungs-und Genussmittel I — 43.
Kuhne e Chittenden. Z. f. Biol. 20 pg. 16.
Lafar — Hand. tech. Mykol. I 554.
Lehmann — Neumann, — Bakter.
Macé — Traité de Bacto.

Migula — System d. Bakf. I 249 — 307.

Neumeister Z. f. Biol. 26|83.

Oppenheimer — Fermente.

NOTA. — Na 1.a parte deste resumo publicado no 1.o numero da Revista, alguns quadros sahiram incorrectos.

Assim substitua-se ao da pag. 13 em cima pelo seguinte:

SERIE IV

Influencia do tempo e da temperatura na extracção

Tempo minutos	A 20°C Subst. secca	N %	A 5°C subst. secca	N %
4	—	0,1008		
8	0,98			
12	1,08	0,107		
20	1,05	0,111	1,04	0,113
35			1,03	0,123
360	Baixou T. a 15°		1,15	0,119

e o da pag. 14 pelo seguinte:

SERIE V

Amostras	1 hora a 100°			Cerca de 2,5 horas a 100°		
	subst. secca	N %	P ₂ O ₅	subst. secca	N %	P ₂ O ₅
I	1,144	0,146		1,148	0,151	0,0982
II	1,210	0,158		1,342	0,183	—
III	1,336	0,176	0,0997	1,540	0,217	0,0994